ÖSTROGEN- UND PROGESTERONREZEPTOREN IM MAMMAGEWEBE UND MAMMATUMORGEWEBE DER HÜNDIN.

Friederike Caselitz

Diss. München
1984

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546827_0017

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. M. Rüsse

ÖSTROGEN- UND PROGESTERONREZEPTOREN IM MAMMAGEWEBE UND MAMMATUMORGEWEBE DER HÜNDIN.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Friederike Caselitz
aus
Uetersen

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. W. Leidl
Referent:	Prof. Dr. M. Rüsse
Korreferent:	Priv.Doz.Dr.Dr.habil. H. Petry

Tag der Promotion: 24.2.1984

Meinen Eltern

in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	3
II.	LITERATUR	5
III.	MATERIAL UND METHODE	12
1.	Material	12
2.	Methode	13
2.1.	Vorbereitung des stickstoff-fixierten Materials	13
2.2.	Färbung der Gefrierschnitte	14
2.2.1.	Übersichtsfärbung	14
2.2.2.	Färbung der Östrogen- und Progesteronrezeptoren	14
2.2.2.1.	Inhalt des Östradiol- und Progesteronkonjugates	15
2.2.3.	Keratinnachweis	16
IV.	ERGEBNISSE	17
1.	Rezeptornachweis bei lichtmikroskopisch unverändertem Mammagewebe	17
1.1.	Östrogenrezeptoren	17
1.2.	Progesteronrezeptoren	18
2.	Rezeptornachweis bei gutartigen Tumoren	22
2.1.	Östrogenrezeptoren	22
2.2.	Progesteronrezeptoren	23
3.	Rezeptornachweis bei bösartigen Mischtumoren	26

Seite

3.1. Östrogenrezeptoren..... 26

3.2. Progesteronrezeptoren..... 27

3.3. Nachweis keratinhaltiger Zellen..... 28

4. Rezeptornachweis bei Sarkomen..... 31

4.1. Östrogenrezeptoren..... 31

4.2. Progesteronrezeptoren..... 32

5. Rezeptornachweis bei Karzinomen..... 35

5.1. Östrogenrezeptoren..... 35

5.2. Progesteronrezeptoren..... 36

V. DISKUSSION..... 37

VI. ZUSAMMENFASSUNG..... 46

VII. SUMMARY..... 47

VIII. LITERATURVERZEICHNIS..... 48

LEBENSLAUF

I. EINLEITUNG

Mammageschwülste sind bei den Haussäugetieren keine seltenen Tumoren. Wie jedoch aus der Literatur hervorgeht, ist der prozentuale Anteil bei den einzelnen Spezies unterschiedlich (v. SANDERSLEBEN, 1968). Beim Rind und bei kleinen Wiederkäuern werden Mammatumore selten registriert. Diese Tatsache ist dadurch bedingt, daß die Tiere im allgemeinen nicht das Alter erreichen, in dem es vermehrt zum Auftreten von Tumoren kommt. Selten, aber doch etwas zahlreicher als beim Wiederkäuer, tritt diese Erkrankung beim Pferd auf. In der Mehrzahl handelt es sich dabei um Karzinome.

Bei der Katze zeigen sich Blastome verhältnismäßig oft und sind nur vereinzelt gutartig. Durch die histologische Untersuchung ist meistens ein Karzinom zu diagnostizieren (v. SANDERSLEBEN, 1968).

Demgegenüber gehören Mammatumore zu den häufigsten Geschwülsten beim Hund (v. SANDERSLEBEN, 1968). Aufgrund des histologischen Bildes und des klinischen Verlaufes muß etwa die Hälfte als bösartig angesehen werden (KNOLL u. UNGER, 1983).

In der Literatur werden hinsichtlich Ätiologie und Pathogenese unterschiedliche Faktoren angegeben. Einerseits besteht kein Zweifel, daß das Risiko einer Erkrankung mit zunehmendem Alter steigt. Andererseits ist bekannt, daß die Gefahr der Tumorentstehung durch frühzeitige Ovariectomie oder

zahlreiche Geburten im Verlauf des Lebens erheblich verringert werden kann (SALUJA et al., 1974).

Es ist deshalb verständlich, daß Einflüsse durch hormonelle Komponenten und den Geschlechtszyklus auf Ätiologie und Pathogenese der Mammageschwülste diskutiert werden.

In der Literatur finden sich zahlreiche Arbeiten, in denen die Wirkung von Östrogenen und Gestagenen auf die Mammatumorgenese beim Hund erörtert werden. Veröffentlichungen über biochemische Untersuchungen zur Hormonrezeptorbestimmung der Geschwülste liegen nur vereinzelt vor (MONSON et al., 1977; HAMILTON et al., 1977; D'ARVILLE u. PIERREPOINT, 1979; LEE, 1980; ELLING u. UNGEMACH, 1983).

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Hormonrezeptoranalyse mittels histochemischer Methode. Eine derartige Reaktion macht die Lokalisation der Rezeptoren für Östrogen und Progesteron im Gewebe sichtbar.

II. LITERATUR

Bereits 1835 wies Sir ASTLEY COOPER beim Menschen auf die Beziehung zwischen Geschlechtszyklus und zyklischen Veränderungen der Brusttumorgröße hin. Erstmals beobachtete er den Zusammenhang zwischen Kinderlosigkeit und erhöhtem Brustkrebsrisiko.

Einundsechzig Jahre später stellte BEATSON (1896) fest, daß eine Ovariectomie bei weiblichen Patienten mit metastasierendem Mammakarzinom eine Besserung des Tumorleidens bewirken kann.

Diese Beobachtungen haben noch heute ihre Gültigkeit und weisen auf hormonelle Einflüsse im Tumorgeschehen hin.

Ideen einer endokrinen Therapie bei Mammatumoren fanden 1940 ihren Anfang, als CHARLES HUGGINS zeigte, daß die Applikation von Östrogenen beim Prostatatumor des Hundes eine Remission bewirken kann (HUGGINS u. CLARK, 1940). Er entwickelte den Gedanken, daß die Krebserkrankung kein völlig "unabhängiges" Geschehen darstellt, sondern daß das Wachstum durch hormonelle Effekte im Wirt beeinflußt werden kann (HUGGINS, 1967). Damit gab er den Anstoß zur Hormontherapie des Karzinoms. Diese Leistung wurde 1966 mit dem Nobelpreis gewürdigt.

Hormonelle Einflüsse auf die Tumorentstehung und Tumorentwicklung wurden oft am Tierversuch studiert. Aufgrund zahlreicher Parallelen zwischen Mammatumorgenese von Mensch und Hund wurde dieses Tier als Modell für ätiologische, pathogenetische und therapeutische Studien häufig herangezogen (ELLING u. UNGEMACH, 1983).

Eine in vitro-Untersuchung verschiedener Mammadysplasien von Hunden unter Zugabe unterschiedlicher Gewebs- und Geschlechtshormone führte WARNER 1977 durch. Dabei stellte er fest, daß die Struktur des Gewebes unabhängig von der Hormonbeigabe in vitro beibehalten wird. Demgegenüber schien die Sekretionstätigkeit unterschiedlich beeinflußt zu werden. Bei Veränderungen im Alveolarbereich war sie hormonunabhängig. Demgegenüber war sie beim Adenofibrom durch Hormone beeinflußbar. Da die alveoläre Dysplasie ihre Sekretionstätigkeit auch in den Medien beibehielt, die das normale, unveränderte Mammagewebe nicht beeinflussen, wurde eine reduzierte Hormonsensibilität diskutiert.

Der Einfluß von Cyproteronacetat, D-Norgestrel und Progesteron auf das Mammagewebe des Hundes wurde 1978 von EL ETREBY und WROBEL beschrieben. Dosisabhängig wurde Mammawachstum, Gewichts- und DNA-Zunahme sowie eine Aktivierung verschiedener histochemisch demonstrierbarer Dehydrogenasen beobachtet. Schon geringe Dosen Progesteron und Cyproteronacetat stimulierten die gesamte Mammaentwicklung. Um einen ähnlichen Effekt mit D-Norgestrel zu erreichen, war eine in etwa hundertfache Dosierung notwendig. Insbesondere war

festzustellen, daß D-Norgestrel und Cyproteronacetat speziell die Milchgangproliferation deutlich aktivieren. Außerdem zeigten sich Besonderheiten der progesteroninduzierten Sekretion gegenüber der während der normalen Gravidität: die induzierte Sekretion trat im Entwicklungsprozeß des Mammawachstums früher ein, erreicht aber nicht den Umfang der in der neunten Woche der Gravidität vorliegenden Sekretion. Außerdem beinhaltete sie im Gegensatz zum unveränderten Sekret kein Fett. Ursache für diese qualitativen und quantitativen Unterschiede in der Hormonwirkung wurden von den Autoren erörtert. Dabei wurde die ungleiche biologische Aktivität, Pharmakodynamik und die unterschiedliche Wirkung auf die Hypophysenhormonsekretion hervorgehoben. Es erschienen auch Arbeiten, die neben dem stimulierenden Effekt des Progesterons die Regression des Mammatumors bei Mensch und Tier unter Einfluß dieses Hormons beschreiben (SEIBERT u. LIPPMAN, 1982).

Andere Untersuchungen hingegen zeigten daß aktive steroidmetabolisierende Enzyme im Mammatumor des Hundes vorhanden sind (EVANS et al., 1977, 1978).

In histologischen und histochemischen Studien des Mammagewebes der Hündin stellten GRÄF und EL ETREBY 1979 fest, daß insbesondere das Milchdrüsengangepithel und das Myoepithel hormonabhängig sind.

Von besonderem Interesse in der vergleichenden Mammatumorgenese von Mensch und Hund sind die Einflüsse oraler contraceptiver Steroide. Übereinstimmend wurde in verschiedenen Arbeiten berichtet, daß bei Tieren die Applikation bestimmter Gestagene, bzw. Gestagen-Östrogenkombinationen über einen Zeitraum von zwei bis sieben Jahren zur Entstehung bösartiger Tumore führen kann (BERLINER, 1974; KWAPIEN et al., 1977; GILES et al., 1978; KWAPIEN, et al., 1980). Diese Tatsache war Gegenstand einer weltweiten Diskussion, inwieweit diese Ergebnisse auf die menschlichen Karzinogenese übertragen werden kann. Bei einem solchen Vergleich waren aber verschiedene Argumente zu berücksichtigen:

Einerseits wurde angenommen, daß Spezies - spezifische Interaktionen zwischen Gestagenen und Hypophysenhormonsekretion vorliegen.

Andererseits war möglicherweise eine unterschiedliche biologische Potenz in der Wirkung der Hormone zwischen Mensch und Hund von Bedeutung.

Außerdem wurde diskutiert, daß die karzinogene Wirkung von Gestagenen an bestimmte chemische Gruppen und an strukturelle Besonderheiten im Molekül gebunden sein kann (GRÄF u. EL ETREBY, 1979).

Es wird allgemein angenommen, daß die Steroidhormone bei Tier und Mensch ihre Aktivität in Zielorganene dadurch erreichen, daß sie zunächst an Rezeptormoleküle gebunden werden müssen, die sich im Cytosol der Zelle befinden. Fehlen diese Proteine, kann keine Hormonwirkung einsetzen. Weitere

Untersuchungen sollten feststellen, ob endogene Einflüsse auf Mammatumore durch Hormonrezeptorbestimmung vorausgesagt werden können (D'ARVILLE u. PIERREPOINT, 1979). Man geht dabei davon aus, daß das Vorkommen von Hormonrezeptoren die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen endokrinen Therapie begünstigt.

Untersuchungen am Mammagewebe des Menschen zur Hormonrezeptorbestimmung zeigten unterschiedliche Ergebnisse: Steroidrezeptoren waren in normalem Mammagewebe vorhanden. Die Konzentration war jedoch bei biochemischen Untersuchungen nicht meßbar (MARTIN et al., 1978; McGUIRE et al., 1975).

Tumorzellen konnten Rezeptoren in unterschiedlicher Menge beinhalten. Dabei war festzustellen, daß die Rezeptorkonzentration abnimmt, je maligner die Geschwulst war, wenn man bei der Beurteilung Kernpolymorphie, Mitoserate und Differenzierungsgrade berücksichtigt (HANSELMANN u. GENTON, 1983). Ein Fehlen von Rezeptoren deutete auf eine ungünstige Prognose hin.

In gutartigen Brustdrüsenerkrankungen der Frau stieg der Östrogenrezeptorgehalt parallel mit der Intensität der Hyperplasie. War diese Zellvermehrung besonders ausgeprägt, treten Östrogen- und Progesteronrezeptoren gleichzeitig auf. Zur Erklärung dieses Phänomens wurde angenommen, daß eine Hypersensibilität besteht, wenn eine bestimmte Proliferationsstufe erreicht ist (JACQUEMIER et al., 1982).

Tumoren ohne Östrogenrezeptoren fanden sich häufiger bei Frauen in der Prämenopause. Oft lagen undifferenzierte Karzinome vor, die histologisch als prognostisch ungünstig beurteilt werden mußten (TORHORST et al., 1980). Bei Mammatumoren von Frauen in der Postmenopause waren eher Östrogenrezeptoren nachzuweisen (HANSELMANN u. GENTON, 1983).

Demgegenüber war der Progesteronrezeptorgehalt in den Tumoren unabhängig vom Alter.

Eine Untersuchung von TULUSAN et al. (1982), ergab, daß Progesteronrezeptoren insbesondere in gut differenzierten, wenig malignen Tumoren nachzuweisen waren. Da die Synthese dieser Rezeptoren abhängig ist von Östrogen, ist ein Nachweis der Progesteronrezeptoren in Tumoren mit Östrogenrezeptoren ein guter Hinweis auf die Intaktheit des Rezeptorsystems. Kommen Östrogen- und Progesteronrezeptoren gleichzeitig vor, konnte durch eine hormonelle Behandlung meistens eine Remission erzielt werden (HANSELMANN u. GENTON, 1983). Auch das Fehlen von Progesteronrezeptoren in Tumoren mit Östrogenrezeptoren ist bekannt und kam oft bei Frauen in der Postmenopause vor.

Andere Ergebnisse zeigten sich bei der Untersuchung von Hormonrezeptoren am Mammagewebe von Hunden. In unverändertem Mammagewebe ist es derzeit nicht möglich, biochemisch Steroidrezeptoren festzustellen (HAMILTON et al., 1977; ELLING u. UNGEMACH, 1983). Über das Vorkommen von Östrogenrezeptoren in benignen Tumoren wurden unterschiedliche Angaben

gemacht. HAMILTON et al. (1977) zeigten, daß diese Proteine in gutartigen Geschwülsten seltener nachzuweisen waren als in bösartigen.

Demgegenüber stellten ELLING und UNGEMACH 1983 fest, daß der Gehalt an Östrogenrezeptoren in gut differenzierten Tumoren zahlreicher war als in anaplastischen Geschwülsten.

Eine Untersuchung von MONSON et al. (1977) zeigte, daß das Adenokarzinom einen höheren Östrogenrezeptorgehalt aufwies als der Mischtumor.

Über das Vorkommen von Progesteronrezeptoren lagen verschiedene Arbeiten vor. Die Untersuchungen ergaben in der Regel einen Rezeptorgehalt von 23% - 62% im Mammatumorgewebe (ALLEGRA et al., 1978; CAFFIER u. BRANDAU, 1978; McGUIRE et al., 1977). ELLING und UNGEMACH stellten 1983 fest, daß der Progesteronrezeptorgehalt stieg, je undifferenzierter das Tumorgewebe war. Dabei bemerkten sie, daß 20% der Tumoren ohne Östrogenrezeptoren Progesteronrezeptoren aufwiesen. Bei Tieren mit multiplen Tumoren waren es 40%.

III. MATERIAL UND METHODE

1. Material

Es wurden 24 Mammatumoren von 20 Hunden unterschiedlicher Rasse im Alter von 4 bis 13 Jahren untersucht. Diese Tiere waren in den Sprechstunden der gynäkologischen Tierklinik der Universität München vorgestellt worden und hatten zuvor keinerlei Therapie erhalten.

Die Proben wurden während einer Operation entnommen. Ein Teil des Tumorgewebes wurde sofort in flüssigem Stickstoff verwahrt, ein anderer für die konventionelle pathologische Befundung in Formalin fixiert.

Bis zur Bearbeitung blieben die Gewebeproben zwei bis zehn Wochen in flüssigem Stickstoff.

Die pathologische Befundung des formalinfixierten Tumormaterials erfolgte im Institut für Veterinärpathologie der Universität München (Vorstand: Prof. Dr. J. v. Sandersleben). Die Beurteilung ergab folgende Klassifizierung:

Klassifizierung

a) Gutartige Tumoren (Adenom, gutartiger Mischtumor, Fibroadenoma pericanaliculare)	3
b) Bösartige Mischtumoren	11
c) Sarkome (S.) (osteoblastisches S., Fibromyxochondrosarkom, polymorphzelliges S.)	3
d) Karzinome (Adenokarzinom, solides Karzinom, anaplastisches Karzinom)	7

Außerdem wurde das unveränderte Mammagewebe von sechs Hunden untersucht. Bei drei Proben handelte es sich um laktierendes Gewebe. Drei weitere Organproben stammten von nichtlaktierenden Milchdrüsen.

2. Methode

2.1. Vorbereitung des stickstoff-fixierten Materials

Von den Gewebeproben wurden mit einem Kryostat 5 Gefrierschnitte in einer Dicke von etwa 7 µm angefertigt. Diese wurden für eine Stunde bei einer Temperatur von 4°C im Kühlschrank luftgetrocknet.

2.2. Färbung der Gefrierschnitte

2.2.1. Übersichtsfärbung

Ein Gefrierschnitt einer jeden Probe wurde einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung unterzogen und histologisch beurteilt.

2.2.2. Färbung der Östrogen- und Progesteronrezeptoren

Vier weitere Schnitte wurden jeweils kurz mit einigen Tropfen des 2%igen bovinen Serum Albumins in PBS-Puffer (Phosphat-buffered-saline) bei einem pH-Wert von 7,4 benetzt. Anschließend wurden je zwei Proben mit je 0,1 ml Östradiol-BSA-FITC-Konjugat[+)], bzw. Progesteron-BSA-TMRITC-Konjugat[+)] bedeckt und zwei Stunden in einer feuchten Kammer bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die Objektträger mit den Proben getrocknet und für eine Stunde in Phosphatpuffer bei einem pH-Wert von 7,4 getaucht, der nach dreißig Minuten gewechselt wurde.

Nach kurzem Trocknen der Schnitte erfolgte das Eindecken mit gepuffertem Glycerol.

Die so behandelten Schnitte wurden fluoreszenzmikroskopisch ausgewertet.

Bei der Beurteilung der Proben wurde ein semiquantitatives Verfahren angewandt. Die Intesität des Fluoreszenz wurde standardisiert gewertet. Außerdem wurde der Prozentsatz der fluoreszierenden Zellen ermittelt. Die Intensistät der Fluoreszenz wird mit stark positiv (+++), deutlich positiv (++) und schwach positiv (+) sowie negativ (-) bewertet.

[+)] Die Konjugate wurden kommerziell von der Firma Travenol erworben.

Außerdem wird die Art und die Lokalisation der fluoreszierenden Zellen und die Verteilung der Fluoreszenz, d.h. diffuse, marginale oder apikale Markierung der Zellen berücksichtigt.

2.2.2.1. Inhalt des Östradiol- und Progesteronkonjugats

Östradiol-BSA-Konjugat[+)]

Es handelt sich hierbei um ein 17ß-estradiol-6-carboxymethyl oxime-bovine serum albumin-fluorescein isothiocyanate conjugate. Jedes BSA-Molekül bindet 24 bis 30 Östradiol- und 5 bis 8 FITC-Reste (LEE, 1980).

Progesteron-BSA-TMRITC-Konjugat[+)]

Dieses Reagenz beinhaltet 11 ∝-hydroxyprogesterone hemisuccinate-bovine serum albumin-tetramethylrhodamine isothicoyanate conjugate. Dabei trägt jedes Proteinmolekül 25 bis 30 Moleküle des Steroidhormones und 4 bis 6 Moleküle TMRITC (LEE, 1980).

2.2.3. Keratin-Nachweis

Zur Identifizierung myoepithelialer Zellen in Mischtumoren wurde ein immunhistologischer Nachweis von Keratin durchgeführt. Diesen Zellen soll in der Entstehung der Mischtumoren eine besondere Rolle zukommen (v. BOMHARD u. v. SANDERS-LEBEN, 1975, 1976). Es sollte festgestellt werden, ob auch diese Zellen Hormonrezeptoren besitzen. Dazu wurden weitere Kryostatschnitte fünf Minuten in kaltem Aceton fixiert, anschließend je dreimal fünf Minuten in PBS-Puffer getaucht.

[+)] Die Konjugate wurden kommerziell von der Firma Travenol erworben.

Es folgte eine Inkubation über zwei Stunden in einer feuchten Kammer bei 37°C mit "pre-Keratin"+) vom Meerschweinchen. Danach wurde dreimal kurz in PBS-Puffer gespült. Anschliessend erfolgte eine weitere Inkubation bei 37°C mit "anti-Meerschweinchen-Peroxidase Lösung"+) in einer Verdünnung von 1 : 20. Es folgte eine dreimalige kurze Spülung in PBS-Puffer. Danach wurden die Schnitte zwei Minuten lang mit Diaminobenzidin beschichtet. Anschließend wurden die Präparate in der aufsteigenden Alkoholreihe entwässert, in Xylol getaucht und mit Eukitt eingedeckt. Die auf diese Weise behandelten Schnitte wurden lichtmikroskopisch beurteilt.

+) Diese Seren wurden erworben vom Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Vorstand Prof. Dr. Weber.

IV. ERGEBNISSE

1. Rezeptornachweis bei lichtmikroskopisch unverändertem Mammagewebe

1.1. Östrogenrezeptoren

Bei laktierendem Milchdrüsengewebe fluoreszieren 80% - 90% der epithelialen Zellen. Die Intensität ist zumeist schwach, vereinzelt auch deutlich. Es fällt auf, daß bei größeren interlobulären Gängen die Fluoreszenz geringer ausgeprägt ist, als bei kleineren intralobulären Gängen und bei Drüsenendstücken und Alveolen. Hier ist die Fluoreszenz zum Teil luminal verstärkt.

Bei zwei von drei Proben nichtlaktierender Hunde fluoreszieren die Milchdrüsenepithelzellen zu etwa 90%. Die Intensität ist meist schwach diffus; bei einer Probe aber zum Teil auch deutlich und zwar insbesondere bei kleineren intralobulären Gängen. In einem Schnitt von nichtlaktierendem Mammagewebe strahlen nur 50% der Epithelzellen schwach diffus.

Die mesenchymalen Zellen des Mammagewebes bei zwei säugenden Hündinnen fluoreszieren zu 20% - 30% schwach marginal. Demgegenüber sind es 60% - 70% bei einem scheinträchtigen Tier.

In den Proben von nichtlaktierenden Hunden ist der Prozentsatz der leuchtenden Zellen ebenfalls sehr unterschiedlich. In einem Schnitt lassen sich nicht mehr als 10% mesenchymaler Zellen nachweisen, die Östrogenrezeptoren besitzen. Bei zwei Proben ist das bei 50% - 60% möglich.

Dabei ist interessant zu bemerken, daß bei einem der Schnitte mit den zahlreichen östrogenrezeptortragenden Zellen im Mesenchym das Epithelgewebe nur zu 50% fluoresziert.

1.2. Progesteronrezeptoren

Im laktierenden Mammagewebe zeigen 90% der epithelialen Zellen eine zumeist deutliche Fluoreszenz. Sie ist oft marginal verstärkt.

Im nichtlaktierenden Organ sind bei zwei Proben ebenfalls 90% leuchtende epitheliale Zellen nachzuweisen, bei einer jedoch, wie auch beim Östrogenrezeptornachweis, nur 50%. Die Intensität ist schwach bis deutlich diffus.

30% - 40% der mesenchymalen Zellen in Organen von säugenden Tieren strahlen deutlich. Vereinzelt finden sich intralobulär zwischen kleineren Gangstrukturen spindelige Zellen mit deutlicher Fluoreszenz.

Im Mammagewebe des scheinträchtigen Hundes sind 60% - 70% dieser mesenchymalen Zellen deutlich markiert.

Nichtlaktierendes Milchdrüsengewebe läßt in zwei Proben nicht mehr als 10% deutlich leuchtende Zellen im Mesenchym erkennen.

In einem Fall sind es jedoch 50% - 60%.

Fotographische Darstellung der Hormonrezeptorverteilung in unverändertem Mammagewebe siehe Abb. 1 - 5.

H.E.- Übersichtsfärbung bei nichtlaktierendem Mammagewebe

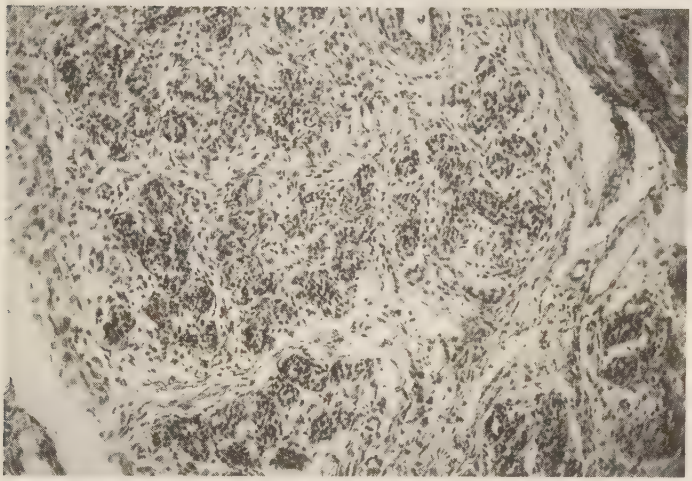

Abb. 1: H.E.-Übersichtsfärbung
Vergrößerung: x 160

Die Abbildungen 1-20 können bei Bedarf in Farbe bei der Gynäkologischen u. Ambulatorischen Tierklinik der Univ.München,Königinstr.12,8000 München 22 angefordert werden.

Darstellung der Hormonrezeptorverteilung bei nichtlaktierendem Mammagewebe.

Abb. 2: Östrogenrezeptorverteilung
Vergrößerung: x 160

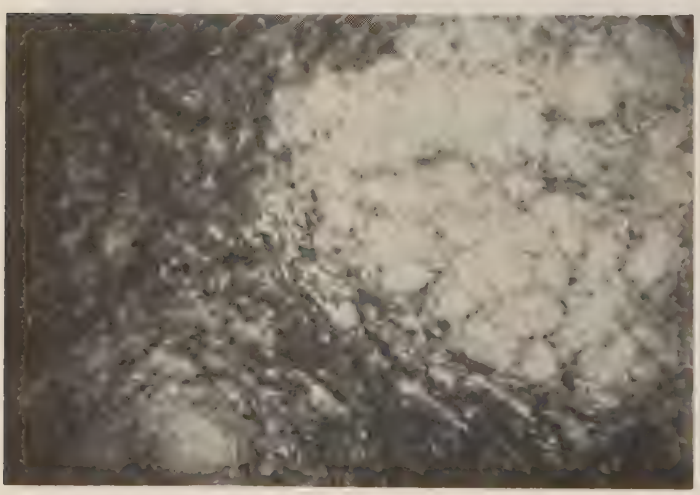

Abb. 3: Progesteronrezeptorverteilung
Vergrößerung: x 160

Darstellung der Hormonrezeptorverteilung bei laktierendem Gewebe.

Abb. 4: Östrogenrezeptorverteilung
Vergrößerung: x 40

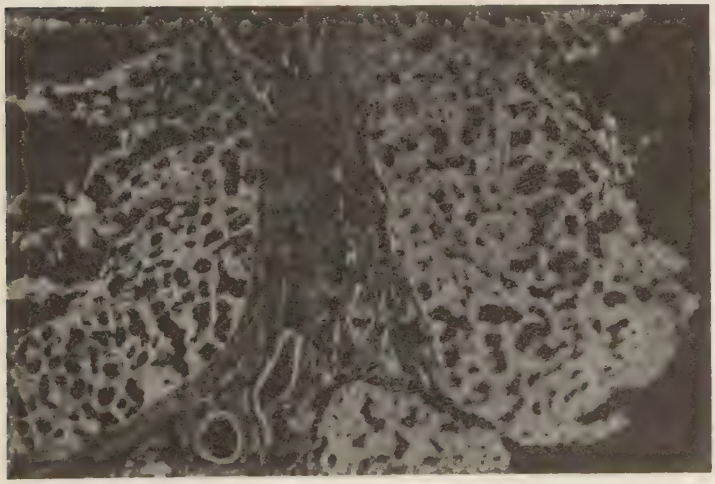

Abb. 5: Progesteronrezeptorverteilung
Vergrößerung: x 160

2. Rezeptornachweis bei gutartigen Tumoren

2.1. Östrogenrezeptoren

90% der epithelialen Zellen der gutartigen Neoplasien fluoreszieren diffus mit einer meist schwachen Intensität. Es ist festzustellen, daß die Epithelzellen von einschichtigen Milchgängen deutlicher fluoreszieren als diejenigen von hyperplastischen Gängen. Dabei ist bei lumennahen Zellen die Markierung zum Teil marginal verstärkt. Die Fluoreszenz der mesenchymalen Zellen in den gutartigen Tumoren ist unterschiedlich verteilt: 10% der Mesenchymzellen von Adenom und Fibroadenoma perikanalikulare haben eine schwache marginale Fluoreszenz. Sie zeigen keine bestimmte Lokalisation, sondern liegen im Gewebe verteilt vor.

Der Östrogenrezeptorgehalt im Mesenchym des benignen Mischtumors ist sehr unterschiedlich verteilt. Innerhalb einer bindegewebigen Kapsel liegen Knorpelbildungen sowie "fischzugartige" Zellansammlungen vor. Die Chondrocythen haben eine schwache marginale Fluoreszenz zu 60%. Auch 60% der Zellen in den "fischzugartigen" Veränderungen sind markiert. Im unveränderten Bindegewebe sind weniger als 10% der Zellen marginal markiert.

2.2. Progesteronrezeptoren

Von den epithelialen Zellen der gutartigen Tumoren sind etwa 90% diffus markiert. Im Gegensatz zum Fibroadenoma perikanalikulare und zum benignen Mischtumor ist die Fluoreszenz der Epithelzellen des Adenoms eher schwach. Allerdings leuchten auch hier zum Teil lumennahe Zellen marginal verstärkt.

Im Mesenchym von Adenom und Fibroadenoma perikanalikulare sind 10% der Zellen deutlich marginal markiert. Das gilt auch für das unveränderte Bindegewebe des benignen Mischtumors. Die Chondrocyten in diesem Tumortyp fluoreszieren zu etwa 80% sehr stark marginal. Auch in den "fischzugartigen" Veränderungen werden in 50% - 60% der Zellen Progesteronrezeptoren nachgewiesen.

Fotographische Darstellung der Hormonrezeptorverteilung im benignen Mischtumor siehe Abb. 6 - 10.

Abb. 6: H.E. - Übersichtsfärbung
Vergrößerung: x 100

Darstellung der Hormonrezeptorverteilung in einem benignen Mischtumor.

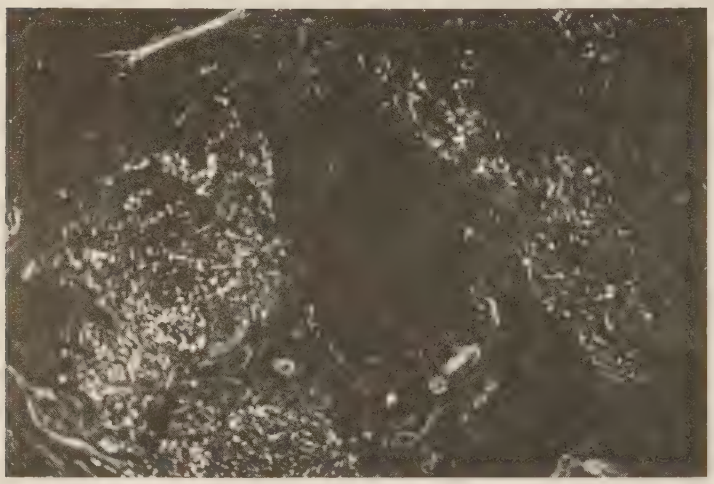

Abb. 7: Östrogenrezeptornachweis
Vergrößerung: x 40

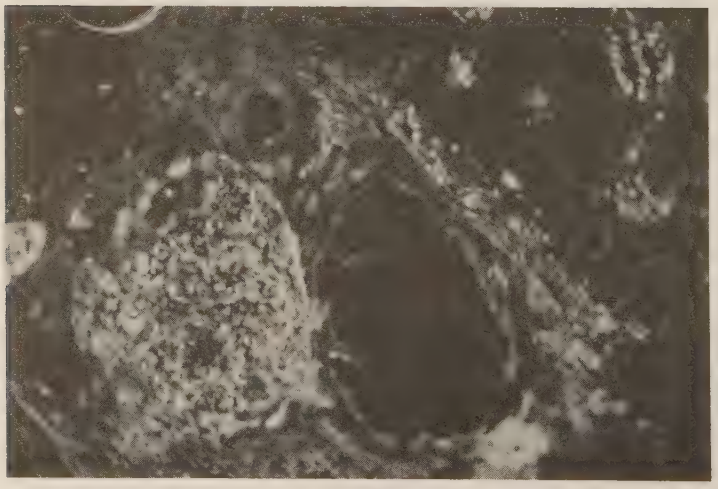

Abb. 8: Progesteronrezeptornachweis
Vergrößerung: x 40

Darstellung der Hormonrezeptorverteilung im benignen Mischtumor.

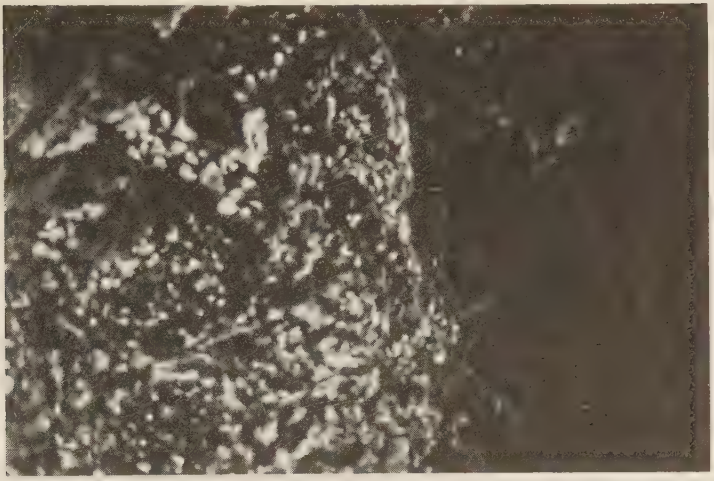

Abb. 9: Östrogenrezeptornachweis
Vergrößerung: x 160

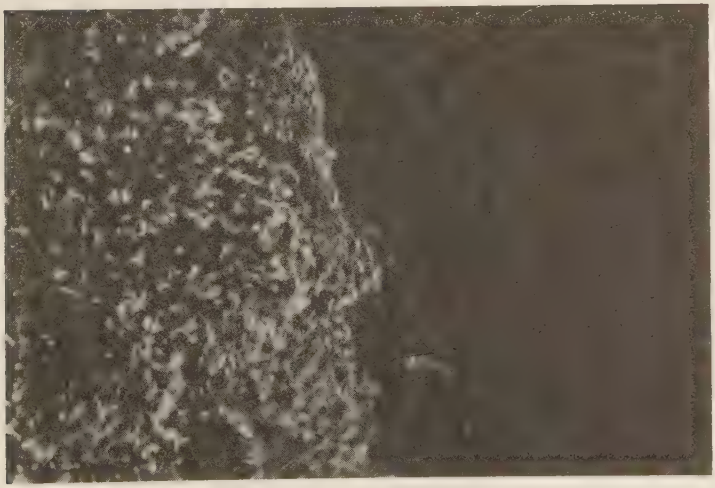

Abb. 10: Progesteronrezeptornachweis
Vergrößerung: x 160

3. Rezeptornachweis bei bösartigen Mischtumoren

3.1. Östrogenrezeptoren

80% bis über 90% der epithelialen Zellen dieser Neoplasien fluoreszieren.

In drei der elf Tumoren sind die Zellen schwach markiert, in den übrigen deutlich bis stark. Es handelt sich meist um eine diffuse Fluoreszenz, die bei manchen Zellen marginal verstärkt ist. Vereinzelt entsteht der Eindruck, daß bei mehrreihigen Milchgängen gerade die lumenständigen Zellen verstärkt fluoreszieren. Die Rezeptorverteilung der Zellen des Mesenchyms erscheint sehr unterschiedlich:

In lichtmikroskopisch unverändert erscheinendem Bindegewebe fluoreszieren nur etwa 10% der Zellen schwach bis deutlich marginal. Demgegenüber fluoreszieren 60% - 70% der Chondrocyten und der Zellen in den "fischzugartigen" Veränderungen deutlich marginal.

Je nach Anteil dieser mesenchymalen Strukturen im Schnitt beträgt die Quantität der Fluoreszenz 10% - 70%. Finden sich also in einer Tumorprobe vorwiegend "fischzugartige" Veränderungen, so fluoreszieren 60% - 70% der in diesem Schnitt vorkommenden mesenchymalen Zellen.

3.2. Progesteronrezeptoren

In zehn der elf Mischtumoren fluoreszieren über 90% der epithelialen Zellen mit einer Intensität von ++ bis +++. Nur in einer Neoplasie dieser Art fluoreszieren nur 70% schwach. Stellenweise zeigen besonders basalmembrannahe Zellen von Milchdrüsengängen eine starke Fluoreszenz. Solche Zellen scheinen zum Teil die Basalmembran zu durchbrechen oder durchzuwandern (siehe Abb. 13 u. 14).

Die verschiedenen Zellen des Mesenchyms zeigen einen unterschiedlichen Progesteronrezeptorgehalt. Von den Chondrocyten fluoreszieren 60% - 70% marginal. In den "fischzugartigen" Veränderungen findet man 50% - 60% marginal markierter Zellen. In unverändertem Mesenchym sind in nicht mehr als 10% der Zellen Progesteronrezeptoren nachzuweisen. Auch hier gilt, daß je nach Anteil der mesenchymalen Strukturen die Quantität der Fluoreszenz variiert.

Vergleicht man die fluoreszierenden Zellen des Mesenchyms beim Progesteronrezeptor- und Östrogenrezeptornachweis, so fällt auf, daß bei sechs malignen Mischtumoren 10% - 20% mehr Zellen Östrogenrezeptoren beinhalten als Progesteronrezeptoren. Nur in einem Fall finden sich um 30% mehr progesteronrezeptortragende Zellen als östrogenrezeptortragende Zellen. Bei vier Mischtumoren ist der Prozentsatz der fluoreszierenden Zellen im Mesenchym für beide Rezeptoren gleich.

Fotographische Darstellung der Hormonrezeptorverteilung siehe Abb. 11 - 15.

3.3. Nachweis keratinhaltiger Zellen

Zur Identifizierung der Zellen von Milchdrüsengängen, die die Basalmembran zu durchbrechen oder zu durchwandern scheinen, wurde ein Keratinnachweis durchgeführt.

Myoepitheliale und epitheliale Zellen wurden deutlich markiert (Abb. 16). Bei den zu identifizierenden Zellen handelt es sich demnach um Myoepithelzellen.

H.E.-Übersichtsfärbung eines malignen Mischtumors.

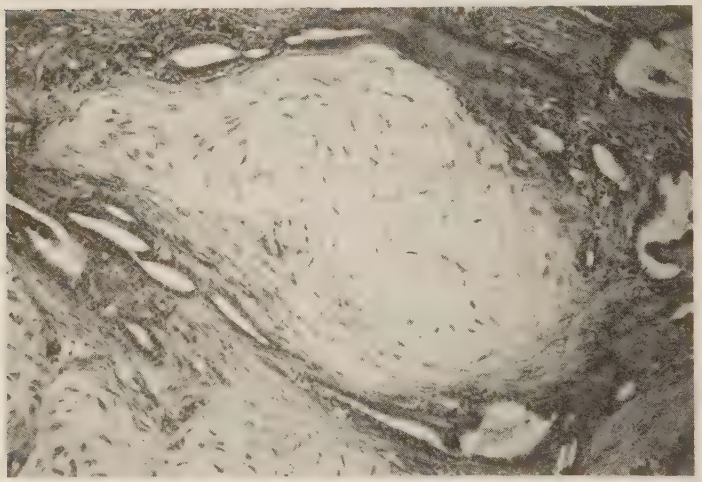

Abb. 11: H.E.- Übersichtsfärbung
Vergrößerung: x 160

Darstellung der Progesteronrezeptorverteilung in einem malignen Mischtumor.

Abb. 12: Progesteronrezeptorverteilung
Vergrößerung: x 250

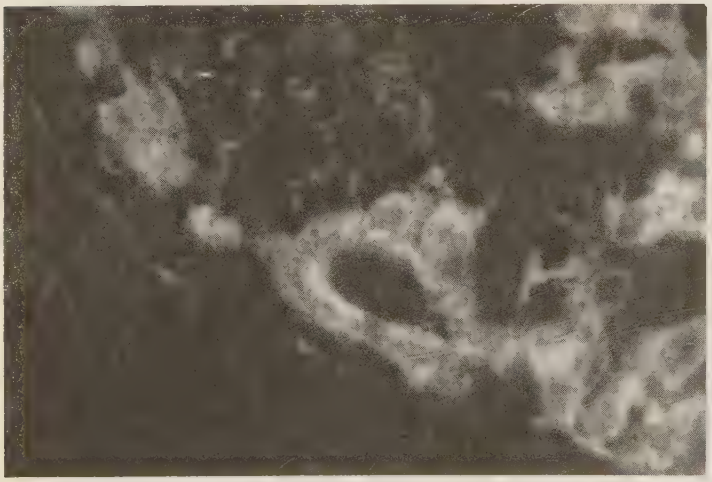

Abb. 13: Progesteronrezeptorverteilung
Vergrößerung: x 500

Darstellung von progesteronrezeptortragenden Zellen im malignen Mischtumor.

Abb. 14: Vergrößerung: x 400

Darstellung der Östrogenrezeptorverteilung im malignen Mischtumor.

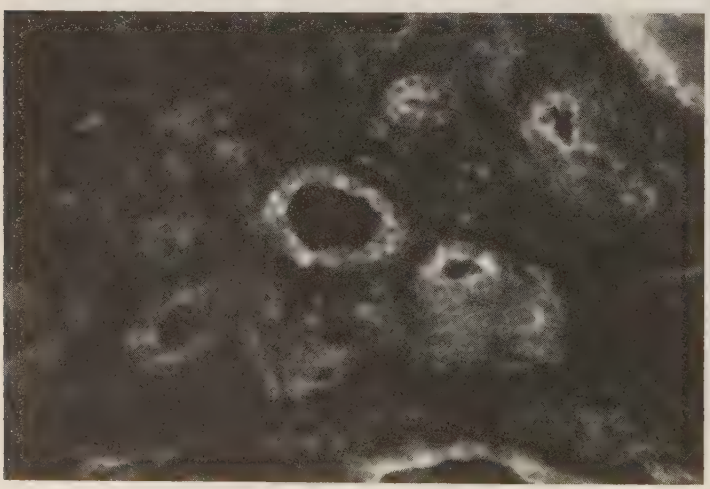

Abb. 15: Vergrößerung: x 250

Darstellung keratinhaltiger Zellen im malignen Mischtumor.

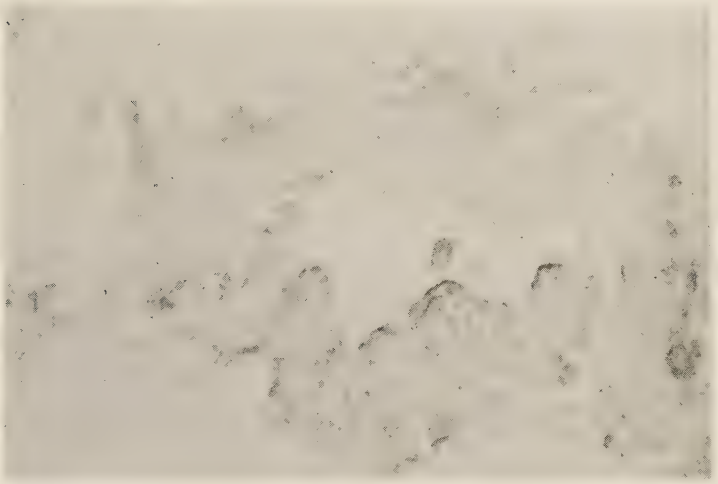

Abb. 16: Vergrößerung: x 400

4. Rezeptornachweis bei Sarkomen

4.1. Östrogenrezeptoren

Das epitheliale Gewebe der Gangstrukturen ist nur in zwei Sarkomen enthalten. Die Quantität der Fluoreszenz beträgt beim Fibro-myxo-chondro-Sarkom 50% und ist schwach. Beim polymorphzelligen Sarkom beträgt sie 90% und ist deutlich positiv. Die Rezeptorverteilung im Mesenchym erscheint unterschiedlich. In lichtmikroskopisch verändertem lockeren Bindegewebe fluoreszieren jeweils nur etwa 10% der Zellen schwach marginal.

Jedoch beim Fibro-myxo-chondro-Sarkom und beim osteoblastischen Sarkom finden sich in unmittelbarer Angrenzung an die Knorpel- bzw. Knochenbildungen massive Zellanhäufungen, die zu 90% eine zumeist deutliche diffuse Fluoreszenz zeigen. Von den Chondrocyten leuchten etwa 50% schwach bis deutlich diffus, von den Knochenzellen 80% schwach marginal. Auch die Zellen zwischen den Knochenzellbalken strahlen schwach diffus zu 90%.

Demgegenüber fluoreszieren beim polymorphzelligen Sarkom nur 30% der Zellen des Mesenchyms. Diese Neoplasie geht mit stark eitriger Entzündung einher, deren Zellen keinerlei Fluoreszenz zeigen.

4.2. Progesteronrezeptoren

Auch hier ist das epitheliale Gewebe der Gangstrukturen in nur zwei Sarkomen enthalten, deren Fluoreszenz in Quantität und Intensität der des Östrogennachweises entspricht.

Beim Progesteronnachweis verhalten sich die mesenchymalen Zellen ähnlich wie beim Östrogennachweis. So fluoreszieren beim Fibro-myxo-chondro-Sarkom und beim osteoblastischen Sarkom 10% der Zellen in lichtmikroskopisch unverändertem lockeren Bindegewebe. Aber die Zellanhäufungen in unmittelbarer Nähe der Knorpel- bzw. Knochenbildungen zeigen ebenfalls eine deutliche Fluoreszenz zu 90%. Von den Knorpelzellen strahlen 50% diffus, von den Knochenzellen 80% deutlich marginal. Die Zellen zwischen den Knochenbälkchen fluoreszieren zu 90% schwach. Die mesenchymalen Zellen des polymorph-

zelligen Sarkoms strahlen zu 30% - 40% meist schwach marginal. Nur wenige Zellen fluoreszieren deutlich.

Fotographische Darstellung der Hormonrezeptorverteilung bei Sarkomen siehe Abb. 17 - 20.

H.E.-Übersichtsfärbung beim osteoblastischen Sarkom.

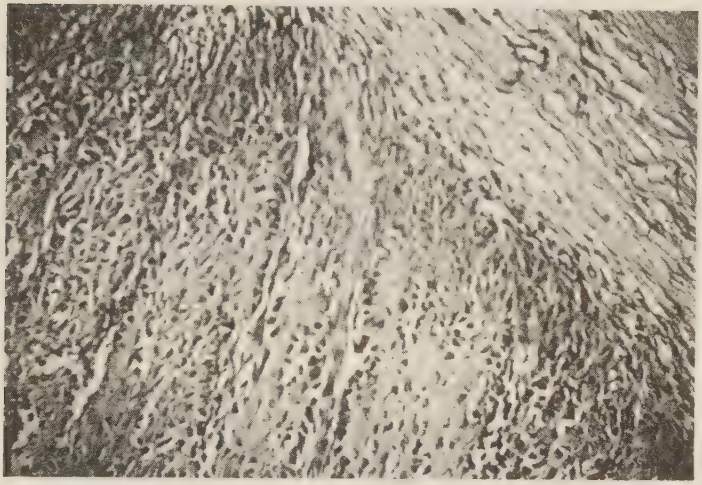

Abb. 17: H.E.-Übersichtsfärbung
Vergrößerung: x 160

Darstellung der Progesteronrezeptorverteilung beim osteoblastischen Sarkom.

Abb. 18: Vergrößerung: x 40

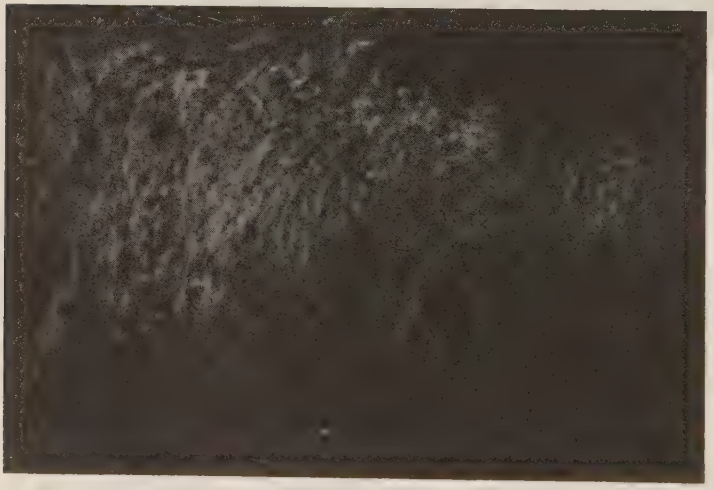

Abb. 19: Vergrößerung: x 160

Darstellung der Östrogenrezeptorverteilung beim osteoblastischen Sarkom.

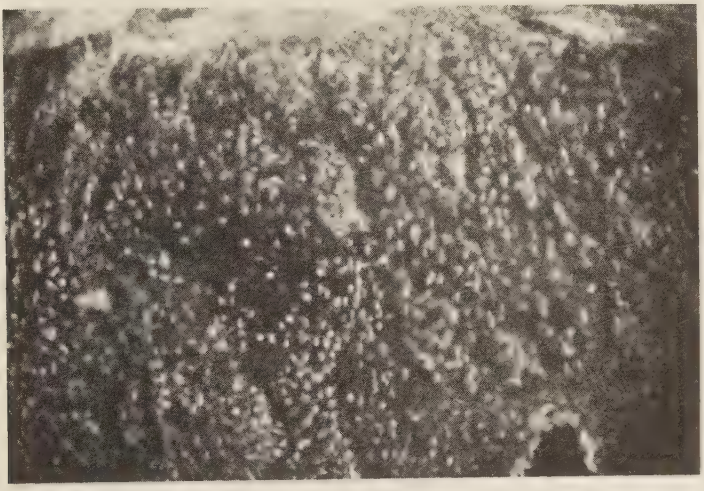

Abb. 20: Vergrößerung: x 160

5. Rezeptornachweis bei Karzinomen

5.1. Östrogenrezeptornachweis

Zumeist schwach diffus fluoreszieren 80% - 90% der epithelialen Milchgangzellen und der Krebszellen. Etwa 10% - 20% davon strahlen marginal verstärkt. Die Fluoreszenz der Epithelzellen von lichtmikroskopisch unveränderten Gangstrukturen ist oft ausgeprägt. Bei Hypertrophie von solchen Gangstrukturen und bei Adenokarzinomzellen ist sie nicht so deutlich.

Von den mesenchymalen Zellen strahlen nur etwa 10% - 30% mit meist schwacher marginaler Intensität. Bei zwei Proben

konnten keinerlei fluoreszierende Zellen im Mesenchym festgestellt werden.

5.2. Progesteronnachweis

Bei über 90% der epithelialen Zellen sind Progesteronrezeptoren nachzuweisen. Beim anaplastischen infiltrativen Karzinom ist die Fluoreszenz besonders stark, beim soliden Karzinom und den Adenokarzinomen schwach bis deutlich. Auch hier überwiegt sowohl bei den Drüsengangepithelzellen wie auch bei den Krebszellen die diffuse Fluoreszenz. Vereinzelt tritt bei den Zellen eine verstärkte marginale Fluoreszenz auf.

Die mesenchymalen Zellen zeigen bei den verschiedenen Proben einen unterschiedlichen Rezeptorgehalt.

Die Adenokarzinome, bei denen im Mesenchym keine Östrogenrezeptoren nachzuweisen waren, zeigen auch keinen Progesteronrezeptorgehalt.

Die mesenchymalen Zellen der übrigen Karzinome fluoreszieren zu 10% - 20%.

V. DISKUSSION

Die Verteilung von Östrogen- und Progesteronrezeptoren in Mammatumoren und in lichtmikroskopisch unverändertem Milchdrüsengewebe soll in dieser Arbeit untersucht werden.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß überwiegend die epithelialen Zellen sowohl im unveränderten Milchdrüsengewebe, als auch in den Tumoren mit Rezeptoren ausgestattet sind. Die Markierung ist selten stark, sondern meist schwach bis deutlich.

Der Hormonrezeptorgehalt der einzelnen Zellen scheint also unterschiedlich zu sein. Grundsätzlich ist festzustellen, daß ein- und zweireihige Milchdrüsengänge in der Regel intensiver fluoreszieren als mehrreihige, also entsprechend mehr Rezeptoren pro Zelle beinhalten. Innerhalb der mehrreihigen Milchdrüsengänge werden die epithelialen Zellen unterschiedlich markiert (siehe Abb. 21). Dabei fällt auf, daß meist die lumennahen Zellen deutlicher fluoreszieren und oft marginal stärker markiert sind. Insgesamt betrachtet fluoreszieren die epithelialen Zellen in der Regel diffus; das spricht für eine gleichmäßige Verteilung der Rezeptoren innerhalb der Zelle.

Darstellung unterschiedlicher Progesteronrezeptorverteilung in den epithelialen Zellen eines mehrreihigen Milchganges.

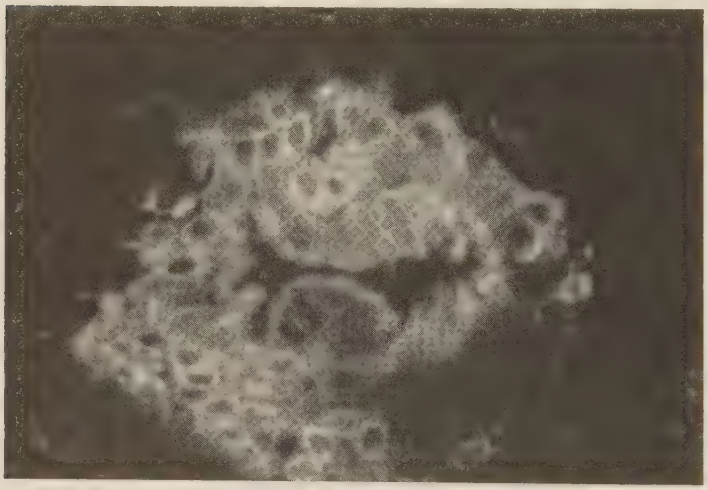

Abb. 21: Vergrößerung: x 500

Vergleicht man östrogen- und progesterontragende epitheliale Zellen miteinander, so ist festzustellen, daß Progesteronrezeptoren vereinzelt häufiger nachzuweisen sind als Östrogenrezeptoren, die außerdem oft schwächer markiert werden. Das läßt möglicherweise auf einen geringeren Rezeptorgehalt der einzelnen Zellen schließen. Hormonrezeptortragende Zellen im Mesenchym sind in wesentlich geringerem Umfang nachzuweisen. Die Untersuchungsergebnisse zeigen Werte von 6% - 70%. Insgesamt betrachtet fluoreszieren die progesteronrezeptortragenden Zellen intensiver als die östrogenrezeptortragenden, jedoch ist die prozentuale Verteilung der Rezeptorquantität ähnlich. Grundsätzlich sind mesenchymale

Zellen überwiegend marginal markiert. Die Rezeptoren scheinen also insbesondere in Membrannähe zu liegen.

Beim lichtmikroskopisch unveränderten Milchdrüsengewebe fällt eine relativ große Streuung der Untersuchungsergebnisse auf. Es sind dabei zyklusbedingte Veränderungen zu berücksichtigen (SEIBERT u. LIPPMAN, 1982).

Die Untersuchungsergebnisse sollen anhand des normalen Zyklusgeschehens beim Hund erklärt werden:

Eine Probe wurde acht Tage nach Abklingen der letzten Läufigkeitssymptome entnommen. Zu dieser Zeit findet man normalerweise im Blutspiegel einer Hündin niedrige Östrogen- und hohe Progesteronkonzentrationen (GRÄF u. EL ETREBY, 1979; JÖCHLE u. ANDERSEN, 1977).

Vergleicht man diese Tatsache mit der Rezeptorverteilung, so stellt man fest, daß epitheliales und mesenchymales Gewebe entsprechend unterschiedlich markiert werden. Einerseits werden die epithelialen Zellen sowohl beim Progesteron- wie auch beim Östrogenrezeptornachweis zu 90% schwach markiert. Andererseits fällt im Mesenchym auf, daß zwar 60% der Zellen jeweils Hormonrezeptoren tragen, jedoch ist die Fluoreszenz beim Östrogenrezeptornachweis deutlich schwächer. Dies zeigt eine Parallele zum sinkenden Östrogengehalt im Blut. Demgegenüber spricht die hier festgestellte deutliche Fluoreszenz der mesenchymalen Zellen beim Progesteronrezeptornachweis für einen höheren Rezeptorgehalt, der mit den steigenden Progesteronkonzentrationen im Blut einhergeht.

Eine zweite Probe von nichtlaktierendem unveränderten Mammagewebe wurde 90 Tage nach der letzten Läufigkeit entnommen. Dieser Zeitpunkt entspricht dem frühen Anöstrus. Während dieser Zyklusphase liegen beim Hund im Blut niedrige basale Progesteron- und Östrogenkonzentrationen vor, verglichen mit den übrigen Stadien im Zyklusgeschehen (GRÄF u. EL ETREBY, 1979; JÖCHLE u. ANDERSEN, 1977). Auch zu diesem Zeitpunkt sind im Epithelgewebe bei über 90% der Zellen sowohl Östrogen- als auch Progesteronrezeptoren nachzuweisen. Sie zeigen eine schwache bis deutliche Fluoreszenz. Demgegenüber sind im Stroma nur weniger als 10% der Zellen als hormonrezeptortragend nachzuweisen.

Eine weitere Probe wurde 180 Tage nach der letzten Läufigkeit entnommen, also in der Zeit des späten Anästrus, frühen Proöstrus. Zu diesem Zeitpunkt nimmt beim normalen Hundezyklus die Östrogenkonzentration in kurzer Zeit zu, während der Progesterongehalt im Blut erst im späten Proöstrus langsam ansteigt (GRÄF u. EL ETREBY, 1979; JÖCHLE u. ANDERSEN, 1977).

Ein Vergleich mit dem Hormonrezeptornachweis zeigt, daß Östrogenrezeptoren bei ca. 50% der mesenchymalen Zellen schwach bis deutlich nachzuweisen sind, während Progesteronrezeptoren in nur 10% vorliegen.

Demgegenüber weisen lediglich 50% der epithelialen Zellen Rezeptoren für die Hormone auf und sind schwach markiert. Möglicherweise verringert sich der Rezeptorgehalt im Laufe des Met- und Anöstrus aufgrund der in dieser Zeit vorliegenden geringen Hormonkonzentration im Blut. Die Zunahme

des Rezeptorgehaltes aufgrund eines zyklusbedingten Hormonanstieges im Blut erfolgt bei epithelialen Zellen langsamer als bei mesenchymalen.

Beim laktierenden Mammagewebe ist festzustellen, daß die Untersuchungsergebnisse einheitlicher sind, als beim nichtlaktierenden Gewebe.

Bei zwei säugenden Tieren wurde das Gewebe am Tag der Geburt (Sectio) entnommen. Hier zeigen die epithelialen Zellen insgesamt eine deutliche Hormonabhängigkeit. Dabei imponiert besonders die merkliche Markierung beim Progesteronrezeptornachweis.

Ähnliches trifft für die mesenchymalen Zellen zu. Es sind weniger hormonrezeptortragende Zellen nachzuweisen als im proliferierenden Gewebe acht Tage nach der letzten Läufigkeit, aber mehr als im inaktiven Organ des frühen Anöstrus. Beim proliferierenden, laktierenden Milchdrüsengewebe einer nicht trächtigen Hündin 60 Tage nach der letzten Läufigkeit imponieren 60%, also zahlreich markierte mesenchymale Zellen im Stroma.

Diese Ergebnisse deuten auf einen deutlichen Einfluß von Progesteron und Östrogen im Proliferationsgeschehen (Zyklusgeschehen) nicht nur im epithelialen, sondern auch im mesenchymalen Gewebe hin.

Betrachtet man die Untersuchungsergebnisse der benignen Mammatumore, so fällt auf, daß die Hormonrezeptoren von Adenom und Fibroadenoma perikanalikulare überwiegend im Epithel vorliegen, während die mesenchymalen Zellen zu weniger als 10% damit versehen sind. Es fällt auf, daß die im Stroma liegenden Zellen beim Progesteronrezeptornachweis deutlicher markiert werden. Es scheinen also demnach mehr Rezeptoren für dieses Hormon vorzuliegen als für Östrogen.

Insgesamt betrachtet scheint jedoch der hormonelle Einfluß im Stroma beim Adenom und Fibroadenoma perikanalikulare eher gering zu sein. Das steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der Untersuchungen an einem benignen Mammamischtumor. Zwar zeigen die epithelialen Zellen ein ähnliches Verhalten beim Hormonrezeptornachweis wie die der Adenome, aber im Mesenchym sind deutliche Unterschiede festzustellen. Aktivierte und veränderte Bereiche zeigen eine merkliche Zunahme der Rezeptoren für beide Hormone. Während Knorpelzellen des Tumors zum größeren Teil Progesteronrezeptoren besitzen, scheinen die übrigen aktivierten mesenchymalen Zellen mehr Östrogenrezeptoren aufzuweisen.

Der hormonelle Einfluß auf die mesenchymalen Zellen, auf die geweblichen Veränderungen ist in diesem Fall also deutlich ausgeprägter als beim Adenom und Fibroadenoma perikanalikulare.

Diese Feststellungen treffen ebenfalls für den malignen Mischtumor zu. Histologische Veränderungen im Mesenchym gehen einher mit einer deutlichen Zunahme rezeptortragender Zellen. Auch diese Tumore weisen Östrogenrezeptoren zum Teil

häufiger auf als Progesteronrezeptoren. Das läßt die Überlegung zu, daß dem Östrogen im Vergleich zum Progesteron eine besondere Rolle zukommen könnte.

Es kann festgestellt werden, daß die Veränderungen des Gewebes im malignen Mischtumor durch Myoepithelzellen mit einem deutlichen Nachweis von Progesteronrezeptoren einhergeht. Die Identifizierung dieser Zellen als Myoepithelzellen erfolgte mit einem immunhistologischen Nachweis des Intermediärfilamentes Keratin (FRANKE et al., 1980).

Geringe Schwankungen beim Hormonrezeptornachweis der epithelialen Zellen können durch zyklusbedingte Einflüsse zustandekommen. Unterschiede in der Rezeptorverteilung und -vorkommen zwischen benignem und malignem Mischtumor konnten nicht festgestellt werden. Auch die mesenchymalen Veränderungen bei den Sarkomen gehen mit einer Zunahme der im Stroma vorkommenden Zellen einher. Dabei erscheinen progesteronrezeptortragende Zellen etwas häufiger vorzukommen, als östrogenrezeptortragende. Auffällig ist, daß auch ein großer Teil der Knorpel- und Knochenzellen Hormonrezeptoren besitzen. Auch dieses Gewebe scheint also durch Hormone beeinflußt zu werden.

Demgegenüber können in lichtmikroskopisch unverändertem Bindegewebe nur etwa 10% hormonrezeptortragende Zellen nachgewiesen werden.

Der Prozentsatz der rezeptortragenden Zellen des polymorphzelligen Sarkoms ist kritisch zu bewerten, da dieser Tumor mit einer stark eitrigen Entzündung einhergeht. Auf diese Weise könnte ein so niedriges Ergebnis bei der Beurteilung rezeptortragender Zellen entstanden sein.

Die sehr unterschiedlichen Werte beim Hormonrezeptornachweis im epithelialen Gewebe können möglicherweise auf Zykluseinflüsse zurückgeführt werden. Allerdings ist der Zeitpunkt der letzten Läufigkeit bei diesen Tieren nicht bekannt. Außerdem sollte man bei dieser Betrachtung mögliche individuelle Unterschiede nicht unberücksichtigt lassen.

Bei den Karzinomen ist der überwiegende Teil der Rezeptoren im epithelialen Gewebe nachzuweisen. Da die Werte nur gering streuten, lag ein recht einheitliches Ergebnis vor. Von den epithelialen Zellen beinhalten 80% - 90% Hormonrezeptoren. Die deutlichere Fluoreszenz beim Progesteronrezeptornachweis läßt auf einen höheren Gehalt schließen und damit auf einen größeren Progesteroneinfluß.

Ähnliches konnte beim Adenom festgestellt werden. Besonders deutlich erscheint der Progesteroneinfluß beim anaplastischen infiltrativen Karzinom. Da im Mesenchym im Vergleich zu den anderen Tumoren nur wenige Zellen hormonrezeptortragend sind, ist der Einfluß von Progesteron und Östrogen allem Anschein nach in diesem Fall gering.

Es ist anzumerken, daß es sich in den Fällen, in denen keine Zellen mit Rezeptoren im Mesenchym nachgewiesen werden konnten, um 12 Jahre alte Tiere handelt, die vor vier bzw.

sechs Jahren ovariohysterectomiert wurden. Hier scheint also das Stroma keinerlei hormonellem Einfluß mehr zu unterliegen.

Betrachtet man also die Rezeptorverteilung in den Tumoren vergleichend, so zeigen sich Ähnlichkeiten zwischen Adenom und Carcinom sowie zwischen den Mischtumoren und den Sarkomen.

Die morphologischen Beurteilungen der Hormonrezeptoren können Unterschiede in der Verteilung sowohl im Normalgewebe als auch im Tumorgewebe aufzeigen. Damit ist eine praktikable Methode für die Diagnostik gegeben, den Rezeptorgehalt am Gewebe zu testen. Die Analyse der cytologischen Verteilung öffnet neue Aspekte für den Gestaltwandel der Mamma bei neoplastischen Veränderungen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die Hormonrezeptoren für Östrogen und Progesteron am normalen und neoplastischen Mammagewebe des Hundes untersucht. Dabei wurde eine histochemische Rezeptorbestimmung durchgeführt.

Zur Untersuchung gelangten:

normale Mammadrüsen	6
gutartige Tumoren	3
bösartige Mischtumoren	11
Sarkome	3
Karzinome	7

Das laktierende Mammagewebe zeigt einen höheren Rezeptorgehalt für Progesteron und Östrogen als das nichtlaktierende, und zwar sowohl vom Epithelgewebe als auch vom Mesenchymgewebe.

Die Mischtumoren zeigen eine Zunahme beider Rezeptoren, insbesondere im mesenchymalen Gewebe. Die Sarkome zeigen ein ähnliches Bild wie die Mischtumoren.

Bei den Karzinomen steht der Rezeptorgehalt des epithelialen Anteils im Vordergrund, im mesenchymalen finden sich wenige Rezeptoren.

Die Befunde werden in Bezug auf ihre funktionelle Bedeutung diskutiert.

VII. SUMMARY

Cellular estrogen and progesterone receptors of canine mammary tumors and unaltered mammary tissues were studied. A histochemical technique was used.

Following tissues were assayed:

unaltered mammary tissues	6
benign tumours	3
malignant mixed tumours	11
sarcomas	3
carcinomas	7

Tissues of lactating mammary glands have more receptors for estrogen and progesterone in epithelial and mesenchymal cells than tissues of non lactating mammary glands.

In mixed tumours the number of the steroid receptors increases especially in the mesenchymal part of the tissues.

The findings of the sarcoma are similar to those of the mixed tumours.

In carcinomas the receptors exhibit a high incidence of steroid receptors in epithelial cells, just very few receptors were in the connective tissue stroma.

The functional importance of the results is discussed.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

ALLEGRA, I.C., M.E. LIPPMANN, E.B. THOMPSON, R. SIMON, L. GREEN, A. BARLOCK, K.K. KUFF, H.M.T. DO, S.C. AITKEN, R. WARREN (1978): Association between steroid hormone receptors and response rate to cytotoxic chemotherapy in metastatic breast cancer. Cancer Treat Rep. 62, 1281-1286

BEATSON, G.T. (1896): On the treatment of inopserable cases of carcinoma of the mamma: Suggestions for a new method of treatment, with illustrative cases. Lancet 2, 104-107

BERLINER, V.R. (1974): U.S. Food and Drug Administration requirements for toxicity testing of contraceptive products. In: "Pharmacological models in contraceptive developments", Briggs, M.H. and E. Diczfalusy (eds.), WHO Research and Training Centre, Stockholm, p. 240

BOMHARD, D.v., J.v. SANDERSLEBEN (1975): Ultrastructure of mixed mammary gland tumours in bitch III. Early stages of the myoepithelial proliferation Virchows Arch. path. Anat. 367 (3), 219-229

BOMHARD, D.v., J.v. SANDERSLEBEN (1976): Ultrastructure of mammary mixed tumours of the bitch IV. Occurence of myoepithelial cells in spindle cell formation. Virchows Arch. path. Anat. A 371 (3), 219-226

BRIGGS, M.H. (1980): Progestogens and mammary tumours in the beagle bitch.
Res. Vet. Sci. 28, 199-202

CAFFIER, H. u. H. BRANDAU (1978): Beeinflussung des Östrogen- und Progesteronrezeptornachweises in Mammacarcinomgewebe durch endogene Hormone.
Arch. Gynäk. 225, 225-265

COOPER, H.P. (1835): Lectures on the Principles and Practice of Surgery.
8th edition, London: John Thomas Cox, 333 pp.

D'ARVILLE, C.N. u. C.G. PIERREPOINT (1979): The Demonstration of Oestrogen, Androgen and Progestagen Receptors in the Cytosol Fraction of Canine Mammary Tumours.
European J. of Cancer 15 (6), 875-883

EL ETREBY, M.F. u. K.-H. WROBEL (1978): Effect of cyproterone acetate, d-norgestrel and progesterone on the canine mammary gland.
Cell and Tissue Research 194 (2), 245-267

ELLING, H. u. F.R. UNGEMACH (1981): Progesterone Receptors in Feline Mammary Cancer Cytosol.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 100, 325-327

ELLING, H. u. F.R. UNGEMACH (1983): Simultaneous Occurence of Receptors for Estradiol, Progesterone and Dihydrotestosterone in Canine Mammary Tumours.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 105, 231-237

EVANS, B.A.J., G. HARVEY, B.A. JOHN, C.G. PIERREPOINT (1977): Steroid metabolism and hormone action in canine mammary tumours.
Acta Endocrinologica 85, 146

EVANS, B.A.J., G. BORTHWICK, D.W. WILSON, C.G. PIERREPOINT (1978): Steroid metabolism and oestradiol - 17-ß-binding in canine mammary tumours.
J. Endocrin. 77 (2), 64-65

FRANKE, W.W., E. SCHMID, C. FREUDENSTEIN, B. APPELHAUS, M. OSBORN, K. WEBER, T.W. KEENAN (1980): Intermediate - sized filaments of the prekerati-type in myoepithelial cell.
J. Cell. Biol. 84, 633-654

GILES, R.C., R.P. KWAPIEN, R.G. GEIL, H.W. CASEY (1978): Mammary Nodules in Beagle Dogs Administered Investigational Oral Contraceptive Steroids.
J. nat. Cancer Inst. 60 (6), 1351-1364

GRÄF, K.-J. u. M.F. EL ETREBY (1979): Endocrinology of Reproduction in the female Beagle dog and its significance in Mammary gland tumourgenesis.
Acta Endocrinologica 90, 1-34

HAMILTON, J.M., R.W. ELSE, P. FORSHAW (1976): Oestrogen receptors in feline mammary carcinomas.
Vet. Rec. 99 (24), 477-479

HAMILTON, J.M., R.W. ELSE, P. FORSHAW (1977): Oestrogen receptors in canine mammary tumours.
Vet. Rec. 101 (13), 258-260, Abst. 1748

HAMILTON, J.M., P.J. KNIGHT, J. BEEVERS, R.W. ELSE (1978): Serum prolactin concentrations in canine mammary cancer.
Vet. Rec. 102 (6), 127-128, Abst. 4432

HAMPE, J.F. u. W. MISDORP (1974): Tumours of the mammary gland.
Bull. World Hlth. Ass. 50, N. 1-2, 111-133

HANSELMANN, R. u. C.Y. GENTON (1983): Beziehung zwischen Morphologie und Steroidrezeptoren beim Mammacarcinom.
Der Pathologe, Bd. 4, Heft 1, 17-23

HEISE, E. u. M. GÖRLICH (1982): Estradiol Receptor in Human Breast Cancer throughout the Menstrual Cycle.
Oncology 39, 340-344

HUGGINS, C. u. P.J. CLARK (1940): Quantitative studies of prostatic secretion: effect of castration and of oestrogen injection on the normal and on the hyperplastic prostate glands of dogs.
J. exp. Med. 72, 747. 762

HUGGINS, C. (1967): Endocrine-induced regression of cancers.
Science 156, 1050-1054

JACQUEMIER, J.D., P.H. ROLLAND, D. VAGUE, R. LIEUTAND, J.M. SPITALIER, P.M. MARTIN (1982): Relationships between Steroid Receptors and Epithelial Cell Proliferation in Benign Fibrocytic Diseases of the Breast.
Cancer 49, 2534-2536

JÖCHLE, W., A.C. ANDERSEN (1977): The Estrous cycle in the dog: A Review.
Theriogenology 7, 113-140

KERN, W.H. (1982): Hormone Receptor Levels and Aspiration Cytology in Cancer of the Breast.
Amer. J. clin. Path. 78, No. 6, 847-849

KNOLL, L.u. H. UNGER (1983): Beitrag zur Chirurgie von Mammatumoren bei der Hündin.
Prakt. Tierarzt 5, 451-457

KWAPIEN, R.P., R.C. GILES, R.G. GEIL, H.W. CASEY (1977): Basaloid Adenomas of the Mammary Gland in Beagle Dogs Administered Investigational Contraceptive steroids.
J. nat. Cancer Inst. 65 (1), 137-142

LEE, S.H. (1980): Cellular Estrogen and Progesterone Receptors in Mammary Carcinoma.
Amer. J. clin. Path. 73, 323-329

MARTIN, P.M., P.H. ROLLAND, J. JACQUEMIER, A.M. ROLLAND, M.TOGA (1978): Multiple steroid receptor in human breast cancer. I. Technical features.
Biomedicine 28, 278-287

McGUIRE, W.L., O.H. PEARSON, A. SEGALOFF (1975): Predicting hormone responsiveness in human breast cancer. In: "Estrogen Receptors in Normal and Neoplastic Tissues".McGuire, W.L., P.P. Carbone, E.P. Vollmer (ed.) New York, Raven Press, 17-31

McGUIRE, W.L., K.B. HORWITZ, O.H. PEARSON, A. SEGALOFF (1977): Current status of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. Cancer 39, 2934-2947

MONSON, K.R., J.O. MALBICA, K. HUBBEN (1977): Determination of estrogen receptors in mammary tumours. Am. J. Vet. Res. 38 (12), 1937-1939, Abst. 5006

NELSON, L.W. u. W.A. KELLY (1974): Changes in Canine Mammary Gland Histology during the Estrous Cycle. Toxicology and Applied Pharmacology 27, 113-122

RAAM, S., E. NEMETH, H. TAMURA, D.S. O'BRIAIN, J.L. COHEN (1982): Immunhistochemical Localization of Estrogen Receptors in Human Mammary Carcinoma using Antibodies to the Receptor Protein. European J. Cancer Clin. Oncol. 18, No. 1, 1-12

SALUJA, P.G., J.M. HAMILTON, M. GRONOW, W. MISDORP (1974): Pituitary Prolactin Levels in Canine Mammary Cancer. European J. of Cancer 10,(1), 63-66

SANDERSLEBEN, J.v. (1968): Die malignen Mammatumore der Hündin unter besonderer Berücksichtigung ihrer Prognose. Zbl. Vet. Med. 15, 111-115

SEIBERT, K. u. M. LIPPMAN (1982): Hormone Receptors in Breast Cancer. Clinics in Oncology 1, No. 3, 735-794

TORHORST, J., W. ROOS, A. ALMENDRAL, U. EPPENBERGER (1980): Beziehung zwischen morphologischen Parametern und zytoplasmatischen Östrogen-Rezeptoren beim invasiven Mammakarzinom. Tumor Diagnostik 2, 91-95

TULUSAN, A.H., H. HAMANN, H. PRESTELE, I. RAMMING, K.v.MAILLOT, H. EGGER (1982): Correlations of the Receptor Content and Ultrastructure of Breast Cancer Cells. Arch. Gynecol. 231, 177-184

WALKER, R.A. (1981): The Cytochemical Demonstration of Oestrogen Receptors in Human Breast Carcinomas. J. Pathology 135, 237-247

WARNER, M.R. (1977): Response of Beagle Dysplasias to Various Hormone Supplements in Vitro. Cancer Res. 37 (7,I), 2062-2067

WROBEL, K.-H., M.F. EL ETERBY, P. GRÜNZEL (1974): Histochemische und histologische Untersuchungen an der Milchdrüse der Beagle-Hündin während verschiedener Funktionszustände. Acta histochem. Bd. 51, 61-78

LEBENSLAUF

Am 25.10.1957 wurde ich, Friederike Doris Gretel Caselitz, als drittes Kind des heutigen Professor Dr. med. Friedrich-Hermann Caselitz und seiner Ehefrau Liselotte, geborene Vagts, in Uetersen geboren.

Im Jahre 1964 wurde ich in die Volksschule "Am Roggenfeld" in Uetersen eingeschult und trat im Jahre 1967 in die Sexta des Ludwig Meyn-Gymnasium ein. Im November 1972 zog die Familie von Uetersen nach Hamburg-Rissen. Dort besuchte ich das "Gymnasium Rissen", wo ich im Juni 1976 das Abitur bestand.

Von 1976 bis 1978 absolvierte ich die Ausbildung zur medizinisch-technischen Laboratoriumsassistentin an der Dr. Gillmeisterschule in Heide, die ich am 28.9.1978 mit der staatlichen Prüfung abschloß.
Im Wintersemester 1978/79 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

Im Januar 1983 begann ich mit den Arbeiten zu der vorliegenden Dissertation an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München.

Herrn Prof. Dr.M.W. Rüsse danke ich für die Überlassung des Themas, seine wohlwollende Unterstützung und seine Ratschläge für meine Arbeit.

Herrn Prof. Dr. J. v. Sandersleben danke ich für die konsiliarische Beurteilung der Schnittpräparate und seine jederzeit gewährte Hilfestellung bei morphologischen Problemen.

Herrn Prof. Dr. H.-E. Stegner danke ich für die Überlassung des Laborplatzes an der Universitäts-Frauenklinik in Hamburg-Eppendorf und seine Hilfestellung und Beratung.

Herrn Prof. Dr. G. Seifert danke ich für die Möglichkeit, am Institut für Pathologie der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf zu mikroskopieren und Mikrophotos anzufertigen.

An dieser Stelle möchte ich auch Frau Monika Diekmann und Frau Beatrice Krüger herzlich für Hilfestellungen bei labortechnischen Problemen, für kleine "Tricks" und Aufmunterungen danken.